

AGROTECHNIKA	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-90
	Gleba i materiał roślinny Oznaczenie pozostałości herbicydów Substancja aktywna — metamitron	9180-41
		Grupa katalogowa 1502

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda oznaczania pozostałości metamitronu (4-amino-6-fenylo-3-metylo-1,2,4-triazyn-5/4H/-on) w materiale roślinnym i glebie przy zastosowaniu chromatografii gazowej lub cieczowej.

1.2. Zakres stosowania normy. Norma ma zastosowanie do oznaczania pozostałości metamitronu będącego składnikiem czynnym preparatów, jak np. Goltix, Goltix L., Burtix w przypadkach:

- a) kontroli pozostałości metamitronu w roślinie i glebie w celu określenia stopnia skażenia i ewentualnego wpływu na rośliny następcze,
- b) analiz pozostałości w wyniku incydentalnego uszkodzenia upraw, analiz arbitrażowych i sądowych.

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania. Oznaczenie polega na wydzieleniu metamitronu z próbki gleby lub materiału roślinnego w procesie ekstrakcji mieszaniną: aceton + + chlorek metylenu, oczyszczeniu ekstraktu od zanieczyszczeń metodą chromatografii kolumnowej oraz oznaczeniu ilościowym badanej substancji metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem detektora termojonowego specyficznego dla azotu lub chromatografii cieczowej.

2.2. Aparatura, przyrządy i materiały

- a) Chromatograf cieczowy z detektorem UV 254 nm.
- b) Chromatograf gazowy z detektorem termojonowym specyficznym dla azotu (NPD).
- c) Homogenizator z pojemnikiem szklanym lub ze stali nierdzewnej.
- d) Łaźnia ultradźwiękowa.
- e) Mikser lub młynek do rozdrabniania.
- f) Mikrostrzykawka o pojemności 10 μ l.
- g) Szklana kolumna chromatograficzna z kranikiem i dnem ze szkła spiekanego o porowatości zero, o długości 100 mm i średnicy wewnętrznej 10 mm.
- h) Strzykawka o pojemności 2 ml.
- i) Wstrząsarka laboratoryjna.

j) Wyparka próżniowa rotacyjna.

k) Zamrażarka (do przechowywania próbek).

2.3. Odczynniki i roztwory

- a) Aceton cz.d.a. destylowany z aparatury szklanej.
- b) Alkohol izopropylowy cz.d.a.
- c) Alkohol metylowy cz.d.a. destylowany z aparatury szklanej.
- d) Chlorek metylenu cz.d.a. destylowany z aparatury szklanej.
- e) Fractosil 200 o uziarnieniu $0,063 \div 0,100$ mm, firmy Merck (nr. kat. 16415).
- f) Gas Chrom Q 80 \div 100 mesh.
- g) *n*-heksan cz. destylowany z aparatury szklanej.
- h) Mieszanina: *n*-heksan-izopropanol (85+15V/V).
- i) Mieszanina: *n*-heksan - aceton (3+1V/V).
- j) Mieszanina: *n*-heksan - aceton (1+1V/V).
- k) Olej silikonowy OV-61.
- l) Siarczan sodu bezwodny cz.d.a.
- l) Wzorzec metamitronu (4-amino-4,5 dihydro-3-metylo-6-fenylo-1,2,4-triazyno-5-on) o czystości 99% otrzymany z firmy Bayer.

2.4. Przygotowanie roztworów wzorcowych

Roztwór A. W kolbie pomiarowej pojemności 100 ml rozpuścić w alkoholu metylowym 0,1 g wzorca metamitronu odważonego z dokładnością do 0,0002 g, uzupełnić alkoholem metylowym do kreski i dobrze wymieszać.

1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 1000 μ g metamitronu.

Roztwór B. Do kolby pomiarowej pojemności 100 ml odmierzyć 10,0 ml roztworu A, uzupełnić alkoholem metylowym do kreski i wymieszać.

1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 100 μ g metamitronu.

Roztwór C. Do kolby pomiarowej pojemności 100 ml odmierzyć 20,0 ml roztworu B, uzupełnić do kreski mieszaniną wg 2.3h) i wymieszać.

1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 20 μ g metamitronu.

Roztwór D. Do kolby pomiarowej pojemności 100 ml odmierzyć 10,0 ml roztworu B, uzupełnić do kreski alkoholem metylowym i wymieszać.

Zgłoszona przez Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa dnia 12 kwietnia 1990 r.
jako norma obowiązująca od 1 stycznia 1991 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 7/1990, poz. 15)

1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 10 μg metemitronu.

2.5. Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbek

2.5.1. Pobieranie próbek — wg PN-78/R-04011.

2.5.2. Przygotowanie próbek do analizy

2.5.2.1. Gleba. Ze średniej próbki gleby pobranej wg 2.5.1 należy usunąć kamienie, resztki roślin itp. zanieczyszczenia, następnie dokładnie próbkę rozdrobnić w moździerzu i wymieszać. Z tak przygotowanej próbki pobrać odpowiednią odważkę do bezpośredniej analizy laboratoryjnej.

2.5.2.2. Materiał roślinny. Średnią próbkę materiału roślinnego, pobraną wg 2.5.1, należy rozdrobnić w młynku lub mikserze i wymieszać. Z tak przygotowanej próbki należy pobrać odpowiednią odważkę do bezpośredniej analizy laboratoryjnej.

2.5.3. Wyznaczanie masy gleby powietrznie suchej. Z każdej próbki glebowej przygotowanej wg 2.5.2.1 odważyć 100 g gleby z dokładnością do 0,1 g, rozsypać cienką warstwą na plastikowej tacy o wymiarach około 20×20 cm, pozostawić przez 48 h w temperaturze pokojowej. Po tym czasie glebę należy ponownie zważyć.

Różnice mas przyjąć za wilgotność gleby.

Współczynnik przeliczeniowy (W) należy obliczyć wg wzoru

$$W = 1 - \frac{W_g}{100} \quad (1)$$

w którym W_g — wilgotność gleby oznaczona po 48 h, %.

2.5.4. Przechowywanie próbek do analizy. Próbki pobrane wg 2.5.1 i przygotowane wg 2.5.2, w celu zabezpieczenia przed rozkładem substancji aktywnej, przechowuje się w temperaturze -20°C w zamkniętym opakowaniu.

2.6. Wykonanie oznaczenia

2.6.1. Ekstrakcja próbek

2.6.1.1. Gleba. 50 g gleby przygotowanej wg 2.5.2.1 umieścić w pojemniku homogenizatora. Do pojemnika dodać 150 ml mieszaniny chlorku metylenu i acetonu (1 : 1) i miksować 2 razy po 15 min. Roztwór zdekantować, do gleby dodać jeszcze 100 ml mieszaniny i wytrząsać przez 1 h na wstrząsarce. Próbkę przesączyć przez sączek z bibuły, a pozostałość przemyć 20 ml mieszaniny. Zebrane filtry połączyć i odparować do sucha na wyparce, w łaźni wodnej o temperaturze 40°C .

2.6.1.2. Korzeń buraka i liście. 50 g materiału roślinnego, przygotowanego wg 2.5.2.2, umieścić w pojemniku homogenizatora, dodać 150 ml mieszaniny aceton-chlorek metylenu (1 : 1) i miksować przez 15 min. Ciecz zdekantować przez sączek do kolby okrągłodennej pojemności 500 ml, a do pozostałości dodać 100 ml mieszaniny i ponownie miksować przez 10 min. Całość przesączyć i dołączyć do poprzedniego ekstraktu i odparować do sucha na wyparce w łaźni wodnej o temperaturze 40°C .

2.6.2. Oczyszczanie ekstraktu. Do kolumny szklanej wsypać na sucho 2 g fractosilu, a następnie 0,5 cm warstwę bezwodnego siarczanu sodu. Aby uzyskać równomierne ubicie wypełnienia, należy w czasie wsypywania wprowadzić kolumnę w lekkie drgania, przez uderzenie pięcikiem szklanym, kawałkiem węża lub przez zastosowanie odpowiedniego wibratora. Suchą pozostałość otrzymaną wg 2.6.1 rozpuścić w mieszaninie *n*-heksanu z acetonem i nanieść na kolumnę.

Substancję aktywną wymywać z kolumn 50 ml mieszaniny.

Uwaga: Dla prób liści stosować mieszaninę wg 2.3i), a dla gleby i korzeni buraka — wg 2.3j).

Otrzymany ekstrakt odparować do sucha na wyparce rotacyjnej w temperaturze 40°C .

2.6.3. Chromatografia

2.6.3.1. Chromatografia gazowa. Otrzymaną wg 2.6.2 suchą pozostałość rozpuścić w 4 ml alkoholu metylowego. Z otrzymanego roztworu pobrać mikrostrzykawką 2 μl i wstrzyknąć na kolumnę chromatografu.

Chromatografię prowadzić w następujących warunkach:

- kolumna szklana długości 2 m,
- wypełnienie: 5% OV-61 na Gas Chrom Q 80-100 mesh,
- gaz nośny: argon 30 ml/min,
- temperatura pieca: 230°C ,
- temperatura perełki: 430°C ,
- czas retencji w granicach $10 \div 15$ min.

W tych samych warunkach wstrzyknąć 2 μl wzorcowego roztworu D. Zmierzyć na chromatogramie wysokość piku wzorca badanego związku z dokładnością do 1 mm. Ilość ng badanego związku w ekstrakcie obliczyć przez porównanie wysokości piku z wysokością piku wzorca o znanym stężeniu.

Za wysokość piku przyjąć średnią dwu nastrzyków.

2.6.3.2. Chromatografia cieczowa. W przypadku stosowania chromatografii cieczowej, suchą pozostałość otrzymaną wg 2.6.2 rozpuścić w 4 ml mieszaniny *n*-heksanu z izopropanolem (wg 2.3h). Z otrzymanego ekstraktu pobiera się strzykawką 1 ml roztworu i wprowadza na kolumnę chromatografu (5 μl).

Chromatografię prowadzić w następujących warunkach:

- kolumna ze stali nierdzewnej, długości 250 mm, $\varnothing W = 4$ mm wypełnionej Si 6D,
- faza ruchoma: *n*-heksan:izopropanol [85 + 15V/V],
- przepływ fazy ruchomej: 0,42 ml/min,
- czas retencji w granicach $5 \div 10$ min,
- detektor UV 254 nm

lub na chromatografii mikrokolumnowym

- kolumna ze stali nierdzewnej, długość 250 mm, $\varnothing W = 1$ mm,
- przepływ fazy ruchomej: 20 $\mu\text{l}/\text{min}$,
- detektor UV 254 nm,
- pętla dozująca pojemności 0,4 μl .

W tych samych warunkach wprowadzić 5 μl wzorcowego roztworu C. Ilość ng badanego związku w ekstrakcie obliczyć przez porównanie wysokości piku z wysokością piku wzorca o znanym stężeniu.

Za wysokość pikę przyjąć średnią dwu nastrożków.

2.6.4. Obliczanie wyników oznaczania. Pozostałość metamitronu (X) należy obliczyć w mg/kg wg wzoru

$$X = \frac{V_p \cdot h_p \cdot a \cdot 100}{V_n \cdot h_w \cdot g \cdot W \cdot n} \quad (2)$$

w którym:

V_p — całkowita objętość roztworu próbki do analizy chromatograficznej, ml,

h_p — wysokość pikę metamitronu na chromatogramie próbki badanej, mm,

a — masa wzorca metamitronu we wprowadzonej na kolumnę objętości roztworu wzorcowego, ng,

V_n — objętość próbki wprowadzona na kolumnę, μ l,

h_w — wysokość pikę wzorca metamitronu na chromatogramie roztworu wzorcowego, mm,

g — odważka próbki wziętej do analizy, g,

W — współczynnik przeliczeniowy na głębę powierzchni suchą wg 2.5.3 dla prób roślinnych przyjąć $W = 1$,

n — odzysk metody, % (wg 2.7).

2.7. Wyznaczanie odzysku metody. Przygotować jak w 2.5 próbki nietraktowanego herbicydami materiału

i odważyć 10 próbek po 50 g z dokładnością do 0,1 g. Próbki umieścić w zamkniętych słojach.

Do trzech pojemników dodać po 5 ml roztworu D, co odpowiada poziomowi 1 mg/kg.

Do trzech pojemników dodać po 2,5 ml roztworu D, co odpowiada poziomowi 0,5 mg/kg.

Do trzech pojemników dodać po 1 ml roztworu D, co odpowiada poziomowi 0,2 mg/kg.

Jedną próbkę pozostawić jako kontrolną. Po upływie 3 h, przeprowadzić analizę wg 2.6. Wynik obliczyć w procentach odzyskanej substancji aktywnej, przy czym odzysk dla każdego poziomu nie może być niższy niż 70%. Za odzysk do obliczeń przyjąć średnią arytmetyczną uzyskanych wyników trzech poziomów.

Odzysk wyznaczyć dla każdego analizowanego materiału i sprawdzić wrywkowo, co pewien czas, dla jednego wybranego poziomu.

2.8. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik oznaczania przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwu oznaczeń różniących się między sobą nie więcej niż 25% dla wyższych poziomów. Dla stężeń bliskich granicy wykrywalności różnica może dochodzić do 50%.

Wykrywalność dla chromatografii gazowej: 0,02 mg/kg.

Wykrywalność dla chromatografii ciekowej: 0,005 mg/kg.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Puławy.

2. Normy związane

PN-78/R-04011 Materiał roślinny i gleba. Pobieranie próbek do ilościowego oznaczania pozostałości pestycydów

3. Autorzy projektu normy — doc. dr hab. Barbara Kostrzewa i dr inż. Jerzy Sadowski — Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Zakład Ekologii i Zwalczenia Chwastów, Wrocław.